

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Obstruksi saluran kemih bagian atas merupakan salah satu masalah dalam bidang urologi yang dapat terjadi pada seluruh fase kehidupan manusia dan lokasinya bisa disepanjang traktus urinarius bagian atas. Akibat dari kondisi ini dapat terjadi hidronefrosis, yaitu terjadinya dilatasi pelvis atau kaliks ginjal.

Singh *et al.*(2012) menyebutkan banyak ditemui kejadian obstruksi pada saluran kemih. Pernah dilakukan outopsi sebanyak 59.064 orang pada kelompok umur neonatus sampai geriatri, ternyata ditemukan sebanyak 3,1% hidronefrosis. Pada perempuan banyak ditemui hidronefrosis ini direntang usia 20-60 tahun dan sering berkaitan dengan keganasan ginekologi, sedangkan pada laki-laki apabila ditemukan di atas umur 60 tahun sering berkaitan dengan pembesaran prostat baik jinak maupun ganas. Hidronefrosis ini juga bisa ditemui pada anak-anak dengan angka kejadian sekitar 2-2,5 % dan lebih sering terjadi pada anak laki-laki (Singh *et al.*, 2012).

Selama kehamilan juga bisa terjadi hidronefrosis. Kejadian ini ditemui sampai 90% dari kehamilan, kemungkinan ini akibat dari kompresi uterus yang *gravid* atau karena pengaruh dari progesteron yang menyebabkan relaksasi otot polos. Biasanya berupa hidronefrosis ringan dan sering terjadi pada ginjal kanan. Pada fase awal dapat diterapi secara konservatif, bila tidak sembuh dengan terapi konservatif maka perlu tindakan operatif dengan pemasangan *ureteric stent* (Isfahani *et al.*, 2005). Bila keadaan ini berlanjut bisa menyebabkan gagal ginjal.

Dari seluruh kejadian gagal ginjal, sekitar 1,5% disebabkan karena kelainan urologi. Pada tahun 1999, di *United Kingdom* didapatkan angka transplantasi ginjal anak 53,4 per 1 juta anak. Obstruksi saluran kemih ini merupakan penyebab utama gagal ginjal terminal pada

anak yang berusia kurang dari satu tahun dengan angka transplantasi sebanyak 23%(Singh *et al.*, 2012).

Uropati obstruktif adalah suatu kondisi tersumbatnya saluran kemih secara fungsional atau anatomiskarena berbagai macam penyebab, sehingga akan terjadi gangguan aliran urin dari proksimal ke distal. Akibatnya akan terjadi hidronefrosis yang nantinya akan mengakibatkan disfungsi endotel glomeruli dan merubah struktur dari ginjal seperti fibrosis interstisial, tubular atrofi, apoptosis serta inflamasi interstisial. Keadaan ini menyebabkan gangguan fungsi ginjal karena menurunnya aliran darah ginjal dan laju filtrasi glomerulus sehingga menyebabkan nefropati obstruktif.(Singh *et al.*, 2012).

Berbagai faktor diperkirakan berperan dalam terjadinya proses tersebut diatas, antara lain stress oksidatif dan inflamasi(Patet *et al.*, 2005; Grande *et al.*, 2010). Tekanan hidrostatik yang meningkat pada intra tubular ginjal akan memicu terjadinya apoptosis, nekrosis dan trauma tubular yang akan mengakibatkan terjadinya fibrosis. Selain itu juga dapat menyebabkan hilangnya fungsi utama nefron ginjal, aktivasi *myofibroblast interstitial* dan deposit matriks ekstraseluler(Picard *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2013)

Interstitial fibrosis dan penurunan fungsi tubular sehingga berakibat reabsorpsi zat terlarut dan air akan berkurang, kehilangan kemampuan mengkonsentrasikan urin, gangguan ekskresi hidrogen dan kalium. Akibatnya terjadi peningkatan risiko dari penderita batu saluran kemih menjadi penyakit ginjal kronis(PGK). Bila progresif PGK ini maka akan menjadi penyakit ginjal terminal (PGT) (Eddy *et al.*, 2006).

Ditemukan peran seluler dan molekuler dalam proses fibrosis ini. Peran seluler tersebut antara lain: inflamasi, sel epitel transisi tubuler menjadi sel mesenkim dan aktivasi kapiler interstitial, sedangkan peran molekuler dapat dibedakan antara molekuler profibrotik dan antifibrotik. Molekuler profibrotik yaitu angiotensin II, *nuclear factor-kappaB*(NF- $\kappa$ B), *tumor necrosis factor alfa* (TNF- $\alpha$ ), *transforming growth factor-beta*(TGF- $\beta$ ), CTGF,

PDGF, FGF, PAI-1, protease, *endotheline-1*, kimokin dan molekul adhesi. Molekuler antifibrotik yaitu HGF, BMP-7, VEGF dan *angiopoietin* yang diproduksi oleh sel tubulus dan interstisial ginjal sendiri maupun dari makrofag (Singh *et al.*, 2012).

Mekanisme gagal ginjal pada obstruksi traktus urinarius adalah terjadinya fibrosis pada ginjal yang mengalami obstruksi tersebut. Fibrosis adalah proses pembentukan jaringan ikat fibrosa yang berlebihan pada suatu organ atau jaringan dalam suatu proses reparasi dan reaktif. Fibrosis berbeda dari pembentukan jaringan fibrosa, yaitu sebagai suatu unsur utama yang normal pada organ atau jaringan. Parut merupakan fibrosis yang menyatu yang menghilangkan arsitektur organ atau jaringan (Peters *et al.*, 2012).

Pada model hewan coba ginjal tikus yang obstruksi ureter unilateral (OUU), terjadinya apoptosis sel tubulus ginjal dimulai pada obstruksi sekitar hari ke-4 dan mencapai puncaknya setelah obstruksi hari ke-15, sedangkan apoptosis sel-sel interstisial terus berlanjut selama obstruksi. Secara mikroskopik pada ginjal yang obstruksi dapat ditemui fibrosis interstitial dan pepadatan membran basalis tubuler mulai pada hari ke 16 (Singh *et al.*, 2012).

Pada keadaan inflamasi terjadi infiltrasi makrofag akan menstimulasi sintesis TGF- $\beta$  yang diproduksi oleh epitel tubulus ginjal dan fibroblast interstisial. (Singh *et al.*, 2012). Melalui kedua reseptornya yaitu TGF- $\beta$ 1 dan TGF- $\beta$ 2 yang fungsinya saling menguatkan, keadaan ini mengakibatkan penumpukan kolagen dengan hasil akhir fibrosis interstisial, apoptosis sel epitel dan atrofi tubulus.

Sistem renin-angiotensin-aldosteron juga berperan. Pada keadaan ini ekspresi TNF- $\alpha$  dan NF- $\kappa$ B akan meningkat, sedangkan angiotensin II juga berperan dalam meningkatkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kondisi obstruksi ureter unilateral (Singh *et al.*, 2012). Efek angiotensin II bekerja melalui kedua reseptornya yaitu angiotensin-1 (AT-1) dan angiotensin-2 (AT-2). Ekspresi NF- $\kappa$ B yang meningkat akan menyebabkan terjadinya proses fibrosis, sedangkan NF- $\kappa$ B sendiri memiliki efek umpan balik positif terhadap produksi angiotensin II sehingga

efek yang dihasilkan lebih berat (Topcu *et al.*, 2006).TNF- $\alpha$  merupakan sitokin yang dapat secara langsung menyebabkan apoptosis pada inflamasi ginjal .(Grande *et al.*, 2010).

*Nuclear Factor- $\kappa$ B* adalah suatu faktor transkripsi yang berada di dalam sitoplasma setiap sel dalam kondisi tidak aktif dan bila diaktifkan akan berpindah ke inti sel. Aktivasi ini bisa disebabkan oleh berbagai macam perantara termasuk stres, asap rokok, virus bakteri, rangsangan inflamasi, sitokin, radikal bebas, karsinogen, promotor tumor, dan endotoksin. Titik fokus untuk berbagai sinyal yang merangsang NF- $\kappa$ B adalah kompleks *I $\kappa$ B Kinase*(IKK), yang memegang kontrol transkripsi NF- $\kappa$ B dengan mengatur proteolisis dari protein inhibitor I $\kappa$ B. Aktivasi NF- $\kappa$ B dapat melalui 2 jalur yaitu *canonical* dan *noncanonical* alternatif. Jalur *canonical* di rangsang oleh *toll like receptor* (TLRs) dan sitokin pro inflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1, akan mengaktifasi RelA yang mengatur ekspresi gen pro inflamasi dan gen sel survival. Jalur *noncanonical* diaktifasi oleh limfotoksin  $\beta$ , CD40L, *B cell activating factor* (BAFF) dan *receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand*(RANKL) dengan mengakibatkan aktivasi kompleks RelB/p52. Salah satu sitokin pro inflamasi yang dapat mengaktifkan NF- $\kappa$ B adalah TNF- $\alpha$  (Lawrence *et al.*, 2009).

Sejak 30 tahun yang lalu ditemukan sitokin yang dinamakan *tumor necrosis factor*(TNF) yang diproduksi melalui aktivasi sistem imun, mampu mengerahkan sitotoksitas yang signifikan pada banyak jalur sel tumor dan menyebabkan nekrosis tumor pada binatang model. TNF akan mengerahkan fungsi biologisnya melalui fungsi interaksi dengan membran reseptor yang dapat menstimulasi degradasi proteolitik I $\kappa$ B dengan proteasome sehingga akan melepaskan NF- $\kappa$ B dan diikuti oleh translokasi inti. Untuk dapat beraktivasi penuh, NF- $\kappa$ B harus dimodifikasi lebih lanjut dengan fosforilasi sub unitnya. Beberapa kinase seperti *mitogen activated protein kinase*(MAPK) dan *protein kinase C*(PKC) yang mempunyai implikasi pada modifikasi sekunder aktivitas NF- $\kappa$ B (Lawrence *et al.*, 2009).



*Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  merupakan suatu sitokin yang terlibat dalam inflamasi sistemik dan merupakan kelompok sitokin yang menstimulasi reaksi fase akut yang terutama dihasilkan oleh makrofag atau sel-sel lain. TNF- $\alpha$  berfungsi meningkatkan *remodelling* atau penggantian jaringan yang mengalami trauma dengan menstimulasi pertumbuhan fibroblast.

*Transforming Growth Factor- $\beta$ 1* disekresi dalam bentuk laten, yang diaktifkan lebih dahulu sebelum berikatan dengan reseptornya. Suatu reaksi inflamasi dapat menyebabkan pelepasan secara lokal TGF- $\beta$ 1 dan sitokin fibrogenik lainnya seperti *matrix metalloproteinases*(MMPs) dan *fibroblast growth factor-2* (FGF-2). Pada kejadian obstruksi ini dapat meningkatkan sintesis *tissue inhibitors of metalloproteinases*(TIMPs) yang dapat menurunkan aktifitas MMPs dan akan meningkatkan akumulasi matriks ekstraseluler(Singh *et al.*, 2012).

Selama ini MMPs dianggap suatu antifibrotik, karena kemampuannya untuk mendegradasi dan *remodeling* matrix ekstra seluler. MMP-9 yang biasa dikenal dengan *gelatinase B* (Tan *et al.*, 2013), merupakan bagian dari MMPs. yang ditemukan pada tubuli ginjal. MMP-9 merupakan suatu profibrosis ginjal karena akan memecah osteopontin, menginduksi *epithel-mesenchymal transition* (EMT), mengaktifkan fibroblast, *pericyte-myofibroblast transdifferentiation* dan *endothelial-mesenchymal transition* (EndoMT)(Tan *et al.*, 2013). MMP-9 ini merupakan hasil regulasi TGF- $\beta$ 1 tubuler ginjal dan sekresi dari makrofag. Ini akan menyebabkan terjadinya peningkatan akumulasi matrik akstraseluler dan myofibroblast (Zhao *et al.*, 2013).

Pada saat ini, pengobatan yang dilakukan adalah dengan memberikan obat yang dapat mempengaruhi aksirenin angiotensin aldosteron, kelompok obat itu dari golongan *angiotensin converting enzyme inhibitor* (ACE-i) dan *angiotensin II receptor blocker* (ARB) yang keduanya digunakan sebagai terapi hipertensi. Pemberian ACE-i atau ARB dapat mengurangi ekspresi TGF- $\beta$ 1, menurunkan produksi matriks ekstraseluler, aktivasi NF- $\kappa$ B dan proliferasi fibroblast yang berujung pada fibrosis. ACE-i hanya dapat mengurangi produksi

TNF- $\alpha$  dan NF- $\kappa$ B yang dipengaruhi oleh *angiotensin converting enzyme*, sementara itu ARB memiliki efek pada semua level yang dipengaruhi angiotensin II (Klahr *et al.*, 2003). Penelitian Wu *et al.* (2010) menyimpulkan bahwa *angiotensin II receptor blocker* (ARB) dan aliskiren meningkatkan perlindungan ginjal terhadap fibrosis dan peradangan selama 14 hari obstruksi pada ureter tikus wistar.

Walaupun demikian, karena efek samping dari obat bahan kimia masih tinggi maka orang mulai berpaling ke fitofarmaka. Bahan alami yang banyak digunakan untuk pengobatan adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan kunyit (*Curcuma longa*) keduanya banyak terdapat di Indonesia. Khasiat temulawak dan kunyit diketahui memiliki sifat antioksidatif, anti-inflamasi dan antimikroba karena mengandung senyawa kurkumin yang terkandung didalamnya. Sejak dahulu di Indonesia, temulawak dan kunyit ini adalah salah satu tumbuhan yang digunakan untuk pengobatan tradisional dan campuran makanan. Bagian temulawak yang dipakai untuk pengobatan adalah rimpang yang mengandung lebih dari 100 macam senyawa seperti amilase, fenolase, lemak, pati, mineral, senyawa turunan fenol (kurkuminoid), minyak atsiri dan minyak esensial resin pada kunyit. Kurkuminoid temulawak dan kunyit tersusun atas 2 senyawa yaitu kurkumin dan desmetoksikurkumin sedangkan kunyit ditambah dengan bisdesmetoksikurkumin (Sidik *et al.*, 1995). Pertama kali dilaporkan oleh Lampe and Milobedeska pada tahun 1913. Kurkumin telah lama dipakai sebagai obat dalam praktek kesehatan tradisional China, India dan negara Asia lainnya untuk kelainan kandung empedu, anoreksia, batuk, luka diabetes, gangguan hepar, reumatik dan sinusitis.

Tahun 1995 Singh dan Aggarwal mempublikasikan bahwa kurkumin dapat menghambat NF- $\kappa$ B melalui hambatan sebelum fosforilasi I $\kappa$ B $\alpha$  dengan menggunakan kultur sel leukemia monoblastik manusia. Mereka menemukan bahwa kurkumin dapat menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B melalui signal transduksi TNF- $\alpha$  (Singh *et al.*, 1995). Penelitian Kumar *et al.* (1998)

menyimpulkan bahwa kurkumin dapat menghambat TNF- $\alpha$  dan NF- $\kappa$ B dengan menggunakan kultur sel endotel.

Kurkumin diketahui memiliki efek pada berbagai mekanisme seluler dan dapat memodulasi respon inflamasi dengan menurunkan aktifitas pengaturan *cyclooxygenase-2* (COX-2), *lipoxigenase*, sitokin pro inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 dan IL-12. Selain dari fungsi diatas, kurkumin juga dapat menghambat *monocyte chemoattractant protein* (MCP), *mitogen activated* dan *Janus kinase* (Jurenka *et al.*, 2009). Pada angina pectoris, kurkumin menghambat ekspresi *extracellular matrix metalloproteinase induce* (EMMPRIN), MMP-9 dan MMP-13 melalui *protein kinase C* (PKC) dan *AMP-actived protein kinase* (AMPK) melalui jalur dependen *phorbol 12-myristate 13-acetate* (PMA) yang mempengaruhi *human monocytic cell* (THP-1 cell) (Cao *et al.*, 2014). Penelitian lainnya menyatakan bahwa kurkumin dapat menghambat TGF- $\beta$ 1 dengan mempengaruhi *epithelial to mesenchymal transition* (EMT) sel tubuler epitelial ginjal melalui jalur *ERK-dependent* dan *PPAR- $\gamma$  dependent* sehingga fibrosis akan berkurang (Li *et al.*, 2013).

Bioavailabilitas kurkumin buruk karena sedikit yang diabsorpsi (5%), cepat dimetabolisme dan cepat dieliminasi. Untuk meningkatkan absorpsinya ini dibuat dalam ukuran *nano*. Tidak seperti kurkumin biasa, nano kurkumin mudah larut dalam air. Bahkan dari beberapa penelitian, nano kurkumin ini didapatkan pada plasma dengan kadar maksimum setelah 4 jam pemberian oral. Pada penelitian *invitro* hasilnya sama dengan kurkumin biasa, tetapi pada penelitian *invivo*, nano kurkumin ini didapatkan dalam otak tikus meningkat 96% (Tsai *et al.*, 2011).

Nano kurkumin pertama kali dilaporkan oleh Bisht *et al.* (2007), dengan membuat kurkumin dalam ukuran nano dengan menggunakan *micellar aggregates of cross-linked and random copolymers of N isopropylacrylamide* (NIPPAM), *N-vinyl-2-pyrrolidone* (VP) dan

*polyethyleneglycolmonoacrylate* (PEG-A) Karakterisasi fisika-kimia polimerik nano partikel diperiksa dengan laser pada mikroskop elektron menghasilkan ukuran 50 nm.

Hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan pada tikus wistar, didapatkan hasil secara histopatologis bahwa suplementasi kurkumin dapat menurunkan tingkat fibrosis pada ginjal akibat obstruksi ureter unilateral dan terbukti bermakna secara statistik (Mahyuzar *et al*, 2013). Bertolak dari masalah diatas, maka penelitian ini akan meneliti mekanisme seluler dan molekuler dari nano kurkumin dalam menekan fibrosis pada ginjal akibat obstruksi ureter unilateral. Penelitian ini penting dilakukan karena dengan pemberian nano kurkumin diharapkan dapat mengatasi gagal ginjal karena fibrosis akibat dari obstruksi ureter.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang, dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut:

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian nano kurkumin terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B dalam mensupresi fibrosis ginjal akibat obstruksi ureter unilateral.
2. Apakah terdapat pengaruh pemberian nano kurkumin terhadap ekspresi TGF- $\beta$ 1 dalam mensupresi fibrosis ginjal akibat obstruksi ureter unilateral.
3. Apakah terdapat pengaruh pemberian nano kurkumin terhadap ekspresi MMP-9 dalam mensupresi fibrosis ginjal akibat obstruksi ureter unilateral.
4. Apakah terdapat pengaruh nano kurkumin terhadap luas area fibrosis interstitial dan atropi tubuli ginjal akibat obstruksi ureter unilateral.

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum



Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh nano kurkumin terhadap fibrosis ginjal akibat obstruksi ureter unilateral berdasarkan mekanisme seluler-molekuler.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan pengaruh pemberian nano kurkumin terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B dalam mensupresi fibrosis ginjal akibat obstruksi ureter unilateral.
2. Membuktikan pengaruh pemberian nano kurkumin terhadap ekspresi TGF- $\beta$ 1 dalam mensupresi fibrosis ginjal akibat obstruksi ureter unilateral.
3. Membuktikan pengaruh pemberian nano kurkumin terhadap ekspresi MMP-9 dalam mensupresi fibrosis ginjal akibat obstruksi ureter unilateral.
4. Membuktikan pengaruh nano kurkumin terhadap luas area fibrosis interstitial dan atropi tubuli pada ginjal akibat obstruksi ureter unilateral.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1. Bagi Ilmu Pengetahuan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi khasanah ilmu pengetahuan tentang efek kerja seluler dan molekuler nano kurkumin dalam mensupresi ekspresi NF- $\kappa$ B, TGF- $\beta$ 1 dan MMP-9 untuk mengatasi terjadinya fibrosis pada ginjal akibat obstruksi ureter unilateral.

#### 2. Bagi Praktisi

Dengan diketahuinya peran nano kurkumin ini, dapat direkomendasikan sebagai suplementasi pada kasus obstruksi ureter unilateral yang belum memungkinkan untuk dilakukan tindakan operasi segera.

#### 3. Bagi Masyarakat.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai salah satu manfaat nano kurkumin yang merupakan obat tradisional dan banyak tersedia di Indonesia untuk mengatasi terjadinya fibrosis pada ginjal akibat obstruksi ureter unilateral, sehingga preservasi fungsi ginjal sedini mungkin dapat dilakukan.

